

## Pi-Clear nucleic acid purification kit - DNA/RNA viral

**ATENÇÃO:** Antes de iniciar o teste, ler atentamente o item "Cuidados especiais" nas Instruções de Uso do produto.

Item	Apresentação - 50 extrações
Colunas – PB1	50 unidades (coluna + tubo de coleta)
Proteinase K - PK	300 µL
Carreador - CR	350 µg (reagente liofilizado. Ressuspender em 350 µL de PB3)
Tampão de Lise – TL	15 mL
Tampão de Lavagem 1 – TP1	50 mL
Tampão de Lavagem 2 – TP2	<b>ATENÇÃO:</b> Devem ser adicionados 48 mL de Etanol 96-100 % Volume Final: 60 mL
Tubo coletor (1,5 mL) – PB2	50 unidades
Água Livre de Nuclease – PB3	15 mL

Armazenamento dos itens: PB1, TL, TP1, TP2, PB2 E PB3 devem ser armazenados em temperatura ambiente (15 - 25 °C); PK e CR (após ressuspensão em água) devem ser armazenados em -20 °C

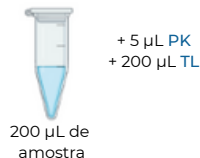
**Itens adicionais:** Além dos itens que compõem o kit, para realizar as extrações é necessário ter Etanol 96-100% e microtubos livres de DNase e RNase extras.

**Procedimento validado para:** escarro, líquido cefalorraquidiano, swab, sêmen, sangue total, plasma e soro sanguíneos.

### Procedimento

#### A) Lise das amostras

- 1 Adicionar 200 µL de amostra em um microtubo limpo, estéril e livre de DNase e RNase;
- 2 Adicionar 5 µL de Proteinase K (PK) e homogeneizar;
- 3 Adicionar 200 µL de Tampão de Lise (TL) e homogeneizar



## Extração e Purificação de ácidos nucleicos

### B) Ligação

- 4** Adicionar 5,6  $\mu\text{L}$  de Carreador (CR) e homogeneizar;
- 5** Incubar a temperatura ambiente por 3 minutos;
- 6** Adicionar 200  $\mu\text{L}$  de Etanol (96-100 %) e homogeneizar;
- 7** Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos.
- 8** Transferir o volume total da amostra lisada para a coluna (PBI);
- 9** Centrifugar por 3 minutos a 4.000 x g;
- 10** Descartar o filtrado;



- + 5,6  $\mu\text{L}$  CR
- ⌚ 3 min TA
- + 200  $\mu\text{L}$  Etanol
- ⌚ 5 min TA



4.000 x g por 3 min



PBI

### C) Lavagem

- 11** Adicionar 700  $\mu\text{L}$  de Tampão de Lavagem 1 (TP1);
- 12** Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g;
- 13** Descartar o filtrado;
- 14** Adicionar 500  $\mu\text{L}$  de Tampão de Lavagem 2 (TP2);
- 15** Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g;
- 16** Descartar o filtrado;
- 17** Repetir os passos 14-16;
- 18** Centrifugar por 2 minutos a 12.000 x g, para secar totalmente a coluna;
- 19** Descartar o tubo de coleta e transferir a coluna para um tubo coletor (PB2).



- + 700  $\mu\text{L}$  TP1
- 11.000 x g por 1 min
- ↻
- + 500  $\mu\text{L}$  TP2
- 11.000 x g por 1 min
- ↻
- + 500  $\mu\text{L}$  TP2
- 11.000 x g por 1 min
- ↻
- 12.000 x g por 2 min
- ↻

### D) Eluição

- 20** Adicionar 30-100  $\mu\text{L}$  de Água Livre de RNase (PB3);
- 21** Incubar a temperatura ambiente por 3 minutos;
- 22** Centrifugar por 3 minutos a 15.000 x g e descartar a coluna;
- 23** Armazenar o DNA/RNA eluído a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , caso não seja utilizado imediatamente. Para longos períodos de armazenamento é recomendado estocar a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



- 30-100  $\mu\text{L}$  PB3
- ⌚ 3min TA
- 15.000 x g por 3 min
- ↻

Acesse o manual completo